

Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Aerob Proteolitik dari Tangki Septik

Fajar Diah Puspitasari, Maya Shovitri, dan Nengah Dwianita Kuswytasari
Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam,
Institut Teknologi Sepuluh Nopember (ITS)
Jl. Arief Rahman Hakim, Surabaya 60111
E-mail: maya@bio.its.ac.id

Abstrak— Tangki septik adalah tempat yang digunakan untuk membuang dan mengumpulkan kotoran atau tinja manusia yang secara alami akan mengalami proses biodegradasi. Didalam tangki septik terdapat berbagai macam mikroba yang dapat mendegradasi kotoran atau tinja manusia. Penelitian ini dilakukan untuk mendapatkan dan mengkarakterisasi isolat bakteri aerob dari tangki septik. Proses isolasi bakteri diawali dengan pengenceran bertingkat dan identifikasi berdasarkan sistem *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. Hasil didapatkan 3 isolat bakteri aerob yang mengarah pada genus *Bacillus*, *Pseudomonas*, dan *Azotobacter*. *Pseudomonas* merupakan gram negatif basil, *Bacillus* merupakan gram positif basil dan *Azotobacter* merupakan gram negatif kokus.

Kata Kunci— Tangki septik, bakteri aerob, Proteolitik, *Bacillus*.

I. PENDAHULUAN

Pemanfaatan mikroba tanah dapat diaplikasikan untuk menambah kualitas pada sektor pertanian. Bioferlitizer merupakan inokulan berbahan aktif mikroba hidup yang berfungsi untuk menambah hara tertentu atau memfasilitasi tersedianya unsur hara bagi tanaman sehingga tanaman bisa tumbuh optimal [1]. Mikroba yang dapat dimanfaatkan sebagai biofertilizer diantaranya adalah mikroba penambat hara, pengikat hara, dan pemantap agregat.

Secara alami, mikroba di alam ditemukan dalam populasi campuran. Untuk memperoleh biakan murni dapat dilakukan isolasi yang diawali dengan pengenceran bertingkat. Proses isolasi mikroba adalah memisahkan mikroba satu dengan mikroba lain yang berasal dari campuran berbagai mikroba untuk dapat mempelajari sifat biakan, morfologi dan sifat mikroba lainnya [2].

Bakteri aerob merupakan bakteri yang membutuhkan O_2 untuk pertumbuhannya. Sistem enzimnya membutuhkan O_2 sebagai elektron aseptor pada proses fosforilasi oksidatifnya [3]. Contoh bakteri aerob adalah *Bacillus* sp., *Escherichia coli*, dan *Streptococcus* [4].

Tinja manusia adalah limbah sistem pencernaan manusia yang sebagian besar tersusun dari air (sekitar 75%), protein, serat, lemak dan garam. Kurang lebih 35% bakteri membantu mendegradasi bahan organik dalam sistem pencernaan manusia [5]. Sebagai contoh bakteri proteolitik yang

mendegradasi protein agar dapat diserap oleh tubuh, dan sebagian dikeluarkan melalui tinja. Protein didegradasi menjadi asam amino [6], selanjutnya lagi menjadi CO_2 , H_2O , dan Amonia (NH_3) yang di lepaskan ke lingkungan. Tujuan penelitian ini adalah mengisolasi dan mengkarakterisasi bakteri aerob proteolitik dari tangki septik.

II. TINJAUAN PUSTAKA

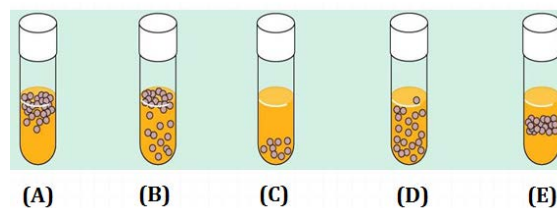
A. Tangki septik

Tangki septik adalah suatu bangunan yang digunakan untuk membuang dan mengumpulkan kotoran sehingga kotoran itu tersimpan dalam satu tempat tertentu dan tidak menimbulkan penyakit[7]. Didalam tanki septik, tinja akan diuraikan secara kimiawi dan biologis oleh aktifitas bakteri [8].

B. Bakteri Aerob.

Nama bakteri berasal dari kata “bakterion” (bahasa Yunani) yang berarti tongkat atau batang. Sejalan dengan pertambahnya pengetahuan, sekarang bakteri digunakan untuk mikroorganisme bersel satu, berkembang biak dengan pembelahan diri, serta memiliki ukuran mikron sehingga hanya tampak dengan mikroskop [9].

Bakteri aerob (Gambar 1 (A)) merupakan bakteri yang membutuhkan O_2 untuk pertumbuhannya. Sistem enzimnya membutuhkan O_2 sebagai elektron aseptor pada proses fosforilasi oksidatifnya [3].



Gambar 1. Pola pertumbuhan bakteri berdasarkan kebutuhan oksigen, A). Aerob Obligat, B). Anaerob Fakultatif, C). Anaerob Obligat D). Anaerob Aerotoleran, E). Mikroaerofil [3].

C. Bakteri Proteolitik

Bakteri proteolitik adalah bakteri yang mampu mendegradasi protein, karena memproduksi enzim protease ekstraseluler [10]. Protease merupakan enzim proteolitik yang mengkatalisis pemutusan ikatan peptida pada protein. Untuk

menentukan kemampuan mikroorganisme dalam mensekresikan protease yang dapat mendegradasi protein, maka pada medium disertakan susu skim yang mengandung kasein. Kasein merupakan protein utama susu, suatu mikromolekul yang tersusun atas sub unit asam amino yang dihubungkan dengan ikatan peptida. Kasein berfungsi sebagai substrat bagi enzim protease [10]. Pada umumnya bakteri proteolitik adalah bakteri dari genus *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Proteus* [6] *Streptobacillus*, *Staphylococcus*, *Streptococcus* [11].

III. METODOLOGI

A. Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan bulan Januari-April 2012 di laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi Jurusan Biologi FMIPA ITS.

B. Cara Kerja

Sampel adalah limbah cair tahu dipermukaan tangki septik yang terletak di asramah kampus ITS. Pengambilan sampel dilakukan di satu titik dengan metode *water sampling*.

Sampel dari tangki septik kemudian diencerkan secara bertingkat. Selanjutnya dari pengenceran diambil 100 µl menggunakan mikropipet dan ditetaskan ke atas medium susu skim agar [2], diratakan dengan spatel *Drygalsky* dan diinkubasi pada inkubator pada suhu 37°C selama \pm 48 jam.

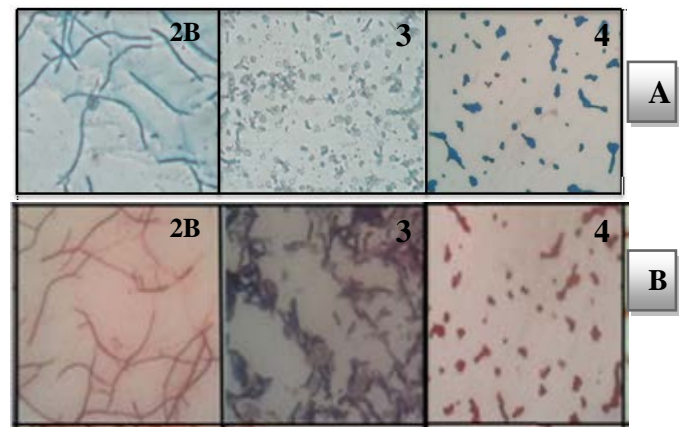
Masing-masing koloni bakteri proteolitik yang tumbuh dengan morfologi yang berbeda, kemudian dipurifikasi agar mendapatkan isolat murni dengan metode 16 gores pada medium agar yang baru, kemudian diinkubasi pada inkubator dengan suhu 37°C selama 24 jam. Setelah pemindahan ke tiga kali dilakukan pengamatan mikroskopis isolat bakteri proteolitik. Apabila pengamatan dari satu koloni hanya terlihat satu bentuk sel sama, maka pemurnian telah menghasilkan isolat murni. Isolat murni bakteri proteolitik aerob diidentifikasi berdasarkan sistem *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology 9th Edition* [4].

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil isolasi dan purifikasi bakteri proteolitik didapatkan 3 jenis koloni dengan kode 2B, 3, 4. Isolat 2B mempunyai bentuk koloni bulat, tepian koloni berombak, dan permukaan koloni datar. Isolat 3 Isolat 2B mempunyai bentuk koloni bulat, tepian koloni berombak, dan permukaan koloni cembung. Isolat 4 Isolat 2B mempunyai bentuk koloni bulat, tepian koloni bercabang, dan permukaan koloni datar.

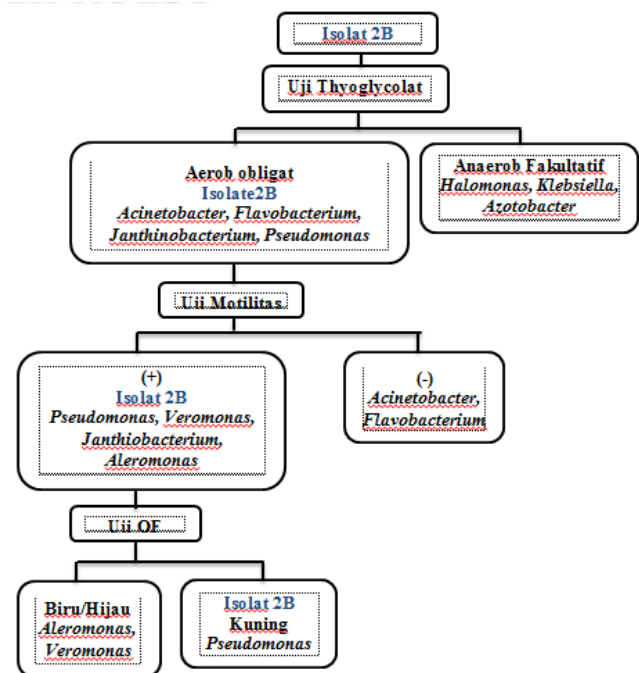
Gambar 1 merupakan hasil dari uji mikroskopis dan uji pewarnaan Gram. Isolat 2B adalah gram negatif basil, isolat 3 adalah gram positif basil dan isolat 4 adalah gram negatif kokus. Hasil identifikasi berdasarkan sistem *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology 9th Edition* [4] menunjukkan kecenderungan isolat 2B mengarah pada genus *Pseudomonas* (Gambar 2), isolat 3 mengarah pada genus *Bacillus* spp.,

(Gambar 4), isolat 4 mengarah pada genus *Azotobacter* (Gambar 5).



Gambar 1. A). Hasil uji mikroskopis B). Hasil pewarnaan gram bakteri aerob dari tangki septik.

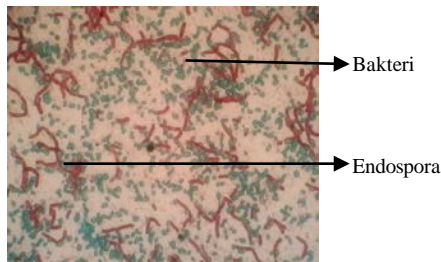
Karakter kunci dari genus *Pseudomonas* adalah sel berbentuk basil, gram negatif, aerob obligat, motil, oksidasi fermentatif negatif (Gambar 2) [4]. *Pseudomonas* adalah bakteri berbentuk batang yang berukuran 0.5-0.8 µm. Aerob dan bergerak dengan flagella. Bakteri *Pseudomonas* termasuk golongan bakteri mesofil, bakteri tersebut dapat tumbuh optimal pada kisaran 25° – 30°C dengan suhu optimum 40°C [14].



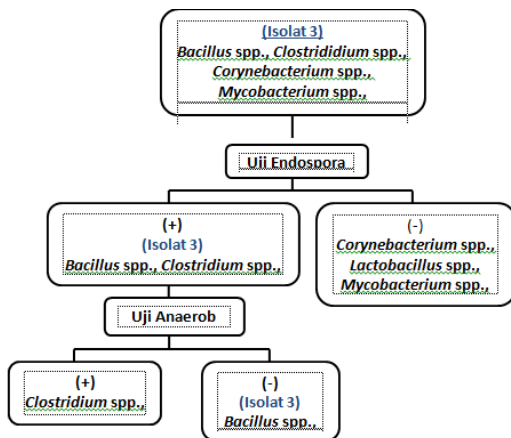
Gambar 2. Diagram dikotomi karakterisasi bakteri gram negatif basil

Endospora merupakan karakter kunci utama genus *Bacillus*. Hal ini juga ditunjukkan oleh isolat 3 (Gambar 3) yang membentuk endospora. Endospora merupakan struktur bakteri yang dapat bertahan pada keadaan yang tidak menguntungkan seperti kekeringan, kekurangan nutrisi, pembekuan, serta bahan-bahan kimia. Karakteristik lain dari

Bacillus adalah motil, katalase positif, kebutuhan O₂ positif [4].

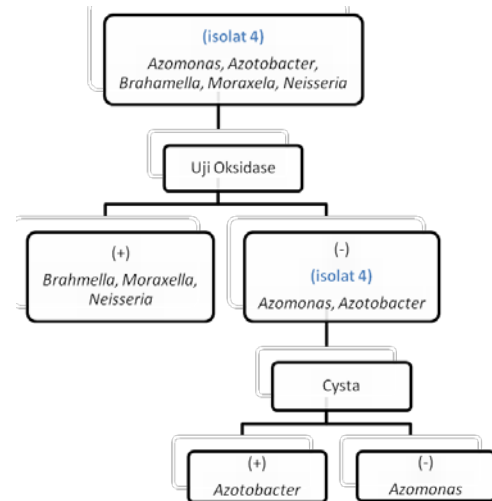


Gambar 3. Endospora bakteri *Bacillus* spp.,

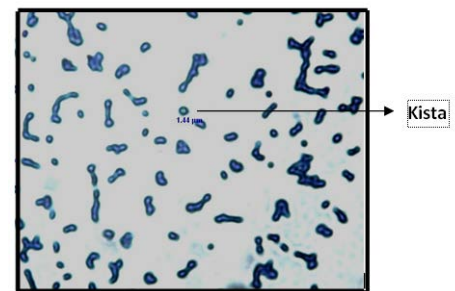


Gambar 4. Diagram dikotomi karakterisasi bakteri gram positif basil.

Isolat 4 cenderung masuk ke dalam genus *Azotobacter*. Karakter kunci utama genus *Azotobacter* adalah sel berbentuk kokus, oksidase negatif (Gambar 5), katalase positif dan membentuk kista (Gambar 6) yang berfungsi untuk melindungi dari keadaan lingkungan yang ekstrim, misalnya kekeringan, sinar ultraviolet dan radiasi ion [12]. *Azotobacter* merupakan bakteri berbentuk kokus yang berukuran 1,5-2,0 µm. tidak membentuk endospora tapi kista. Bergerak dengan flagella, bersifat aerob dan kemoorganotrof, menggunakan gula, alkohol, garam dari bahan organik untuk tumbuh, katalase positif. (Derajat Keasaman) pH optimum pada 7-7,5 dan biasa ditemukan di tanah dan air. Spesies tertentu dapat berasosiasi dengan akar tumbuhan [4].



Gambar 5. Diagram dikotomi karakterisasi bakteri gram negatif kokus.



Gambar 6. Kista *Azotobacter*

V. KESIMPULAN/RINGKASAN

Isolat yang berhasil diisolasi dan dikarakterisasi dari tangki septik berdasarkan uji biokimianya menurut *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, mengarah pada genus *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Azotobacter*. Karakter kunci dari genus *Pseudomonas* adalah sel berbentuk basil, gram negatif, aerob obligat, motil, oksidasi fermentatif negatif. Karakter kunci utama genus *Bacillus* adalah sel berbentuk basil, gram positif dan membentuk endospora. Karakter kunci utama genus *Azotobacter* adalah sel berbentuk kokus, oksidase negatif, katalase positif dan membentuk kista.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] R.D.M Simanungkalit, *Pupuk Organik dan Pupuk Hayati Organik Fertilizer and Biofertilizer*, Balai Besar Litbang Sumber Daya Lahan Pertanian Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian Bogor (2006) 2-3.
- [2] L.Waluyo, *Teknik dan Metode Dasar dalam Mikrobiologi*, Malang: UMM Press, (2008), 180-182.
- [3] J.G Cappuccino dan N.Sherman, *Microbiology: a Laboratory Manual*, California: Adison-Wesley Publishing company (1983).
- [4] J.G Holt, N.R. Krieg, P. Sneath, J.T. Staley dan S.T. Williams, *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology 9th Edition*, USA: Williams and Wilkins Pub (1994).
- [5] M.T. Yokoyama dan Johnson, *Microbiology of The Rumen and Intestine, di dalam: Church DC, editor, "Digestive Psysiology and Nutrition of Ruminant,"* New Jersey: Prentice Hall (1988).
- [6] H.G Schlegel, *Mikrobiologi Umum*, Yogyakarta: Gadjah Mada. University Press. Yogyakarta (1984).

- [7] I. F. Purwanti, dan A. Masduqi (2003), *Kinerja Digester Aerobik dan Pengering Lumpur Dalam Mengolah Lumpur Tinja*. Jurusan Teknik Lingkungan FTSP-ITS. [online]. Available: <http://www.its.ac.id/personal/files/pub/2085-ali-masduqi-lpung.pdf>.
- [8] D. Dwidjoseputro, *Dasar-Dasar Mikrobiologi*, Malang: UM Press (2003).
- [9] M. Robert, M.E. Mercade, M.P. Bosch, J.L. Parra, M.J. Espuny, M.A. Manresa dan J. Guinea," Effect of the carbon source on biosurfactant production by *Pseudomonas aeruginosa* 44T1," *Biotech.Lett.*, Vol 11 (1989) 871-874.
- [10] Elfi Susanti," Penentuan Aktivitas Dan Jenis Protease Dari *Bacillus* sp.," BAC4¹. *Sainmat*, Vol 1 (2003) 56-57.
- [11] A. H. Akmal, dan Romita, A., "Isolasi Mikroba Tanah Penghasil Antibiotika dan Sampel Tanah pada Lokasi Penumpukan Sampah," *Cermin Dunia Kedokteran*, No. 108, 199645 (1996).
- [12] M.T. Madigan, Martinko, J.M and J. Parker, *Biology of Microorganisms*, USA: Prentice Hall (1997).